Aus der Medizinischen Universitätsklinik
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Professor Dr. med. R. Cobet

Der Glykogengehalt des Rattenherzens nach Einwirkung von Diphtherie-Toxin

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Vorgelegt von

HERMANN BÖHM
bestallter Arzt
aus Halle (Saale)

Halle (Saale) 1938

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14

Aus der Medizinischen Universitätsklinik
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Professor Dr. med. R. Cobet

Der Glykogengehalt des Rattenherzens nach Einwirkung von Diphtherie-Toxin

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Vorgelegt von

HERMANN BÖHM
bestallter Arzt
aus Halle (Saale)

Halle (Saale) 1938

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14

1. Berichterstatter :Prof. Dr. med .R. Cobet

2. Berichterstatter:
Geheimrat Prof. Dr. med. et phil. E. Abderhalden

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Februar 1938

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

Meinem Vater zum Gedenken!

Meiner Mutter in Dankbarkeit
gewidmet.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Bei einer Diphtherieerkrankung können Kreislaufschädigungen auftreten, die für die Prognose von ausschlaggebender Bedeutung sind. Dabei findet man am Herzen besonders eine Myocardschädigung in Form einer Myocarditis. Es erscheint möglich, daß während der Diphtherieerkrankung Stoffwechselveränderungen eine Rolle spielen, wobei dem Glykogen eine besondere Bedeutung zukommen mag.

Schon Grunke-Kampf fanden bei Untersuchungen des Herzglykogens durch Schätzung im histologischen Präparat im Verlauf einer Diphtherie-Intoxikation einen Schwund des Glykogens. Um diese gefundenen Ergebnisse zu erhärten und zu erweitern, sollen nunmehr Untersuchungen gleicher Art mit Hilfe einer exakten chemischen Mikrobestimmung vorgenommen werden.

Es wurde nun zunächst nach einer geeigneten Methode zur Bestimmung ds Herzglykogens gesucht. Die Methode von de Joungh und Planelles liefert für die in Frage kommenden Untersuchungen zu ungenaue Werte. Diejenige von Bierry erschien zu umständlich. Es wurde schließlich die Mikrobestimmungsmethode von Simonovits versucht, die in Anlehnung an das von Pflüger und Sahyun benutzte Prinzip arbeitet.

Obgleich diese Methode zu den eigentlichen Versuchen nicht in der vom Verfasser angegebenen Weise benutzt wurde, sei sie hier aufgeführt, da sie als Grundlage diente.

Methode nach Simonovits:

Je nach dem Glykogengehalt des betreffenden Organs werden 0,1—0,4 (oder mehr) frischen Gewebes in einem Zentrifugenrohr aus Jenaer Glas von etwa 15 ccm Inhalt mit 60 %-iger Kalilauge (mit der doppelten Menge) versetzt. Die Röhrchen werden mit Zinnfolie bedeckt, 30—40 Minuten in einem siedenden Wasserbade gehalten, bis die Lösung vollständig klar geworden ist. Um den Lösungsprozeß zu beschleunigen, empfiehlt es sich, das Zentrifugenrohr alle 5—10 Minuten umzuschwenken. Nach dem Abkühlenlassen gibt man 0,5 ccm gesättigter NaCl-Lösung dazu, versetzt mit der zweifachen Menge 96 %igen Alkohols, verrührt gründlich mit einem Glasstab und zentrifugiert nach einstündigem Stehenlassen eine halbe Stunde scharf ab. (Ich benutzte eine Zentrifuge mit 3500 Touren.) Nach Abgießen der Flüssigkeit wird das am Boden des Zentrifugenrohrs haftende Glykogen in 3 ccm heißen Wassers gelöst, 0,5 ccm NaCl-Lösung hinzugesetzt, das Ausfällen mit der zweifachen Menge Alkohol wiederholt, umgerührt, eine Stunde stehen gelassen und nach scharfen Abzentrifugieren wie vorher die Flüssigkeit abgegossen. Nun wird das Glykogen in etwa 5 ccm heißem dest. Wasser gelöst, unter Benutzung von Lackmuspapier mit einigen Tropfen H_2SO_4 neutralisiert, in ein Meßkölbchen von 15 ccm überführt und bis zur Marke aufgefüllt. Die bei dem Neutralisieren ausgefallenen Albuminate werden abfiltriert und von dem Filtrat 13 ccm in einem Zentrifugenrohr mit 1,5 ccm gesättigter NaCl-Lösung und abermals mit dem zweifachen Volumen 96 %igen Alkohols ver-

setzt. Nach gründlichem Umrühren und mindestens fünfstündigen Stehenlassens wird wieder eine halbe Stunde zentrifugiert, nach Abgießen der Flüssigkeit das am Boden des Zentrifugenrohrs haftende Glykogen in 5 ccm heißem Wasser gelöst, 5 ccm 2n H_2SO_4 zugegeben und zwecks Hydrolyse 2 Stunden mit Zinnfolie bedeckt im siedenden Wasserbad gehalten. Nach dem Abkühlenlassen wird es mit 2n NaOH neutralisiert in einen Meßkolben übertragen und der Zucker nach einer Reduktionsmethode bestimmt.

Beim Arbeiten mit dieser Methode machten sich Änderungen notwendig, die im Folgenden aufgezeigt sind.

Zur größeren Genauigkeit wurden von vornherein „Doppelversuche" und neben diesen ein „Leerversuch" angesetzt.

Die Doppelversuche kamen anfangs so zustande, daß das auf seinen Glykogengehalt zu untersuchende Herz in zwei Teile zerschnitten und diese Teile getrennt in zwei Gläschen verarbeitet wurden. Der Leerversuch wurde genau wie die anderen (ein Stück Herz enthaltenden) Lösungen behandelt. Er enthielt genau dieselben Flüssigkeiten und wurde den gleichen Maßnahmen unterworfen, nur mit dem Unterschied, daß eben kein Herzmuskel hinein getan wurde. Er diente dazu, den Reduktionswert, der im Laufe des Versuches zur Versuchslösung hinzugegebenen Flüssigkeiten zu bestimmen.

Der erhaltene Wert des Leerversuches wurde dann von den erhaltenen Glykogenwerten in Abzug gebracht.

Die Methode nach Simonovits machte zunächst insofern Schwierigkeiten, als das geeignete Material zum Abdecken der Glasröhrchen auf dem Wasserbade fehlte. Simonovits benutzte dazu Zinnfolie. Unbedeckt konnten die Gläser aber während einer zweistündigen Hydrolyse auf dem Wasserbade nicht bleiben, da einmal vermieden werden mußte, daß kochendes Wasser von außen in die Röhrchen gelangt und dadurch die Versuchsflüssigkeit verunreinigt, und das zum anderen die Versuchsflüssigkeit zu schnell verdampft. Eine Lösung dieser Schwierigkeiten schien dadurch gegeben, daß die Gläschen mit Korkstopfen verschlossen wurden, durch die ein langes, dünnes Glasrohr führte, welches als Rückflußkühler gedacht war. Die Apparatur mußte jedoch bald verworfen werden, weil nach dem stundenlangen Hydrolysieren durch die Korkstopfen eine Braunfärbung der Versuchsflüssigkeit eintrat und nachher die Ergebnisse der Doppelversuche nicht annähernd übereinstimmten.

Es war klar, daß die Fehlerquelle in den Korkstopfen lag, und so wurde nach Überlegen und Ausprobieren endlich eine Vorrichtung gefunden, die ebenso praktisch wie fehlerlos arbeitete. Ein Erlenmeyerkölbchen erhielt am Hals ein geschliffenes Ansatzstück, in das genau der geschliffene Ansatz eines etwa 80 cm langen Glasrohres hinein paßt.

Eine weitere Abänderung der Simonovits'schen Methode wurde dadurch vorgenommen, daß nach dem Ausfällen des Glykogens mit Hilfe von Alkohol die Versuchsflüssigkeit nicht bald danach zentrifugiert, sondern über Nacht im Eisschrank stehen gelassen wurde. Dies kam durch folgende Beobachtung zustande.

Nach Pflüger soll zur Fällung des Glykogens die doppelte Menge Alkohol benutzt werden. Bei Zugabe dieser Menge 96 %igen Alkohols konnte eine Fällung des Glykogens mit dem bloßen Auge nicht festgestellt werden. Die Lösung sah zunächst nur schwach opaleszierend aus. Setzte man jedoch mehr Alkohol als die doppelte Menge hinzu, dann fiel sofort ein makroskopisch sichtbarer, grobflockiger Niederschlag. Später wurde beim Neutralisieren der wässerigen Glykogenlösung dieser Niederschlag als Eiweiß erkannt. Wurde nun wie von Pflüger angegeben die doppelte Menge Alkohol hinzugesetzt, die Versuchsflüssigkeit aber nicht gleich zentrifugiert, sondern über Nacht stehen gelassen, so fand sich am anderen Morgen ein sichtbarer, grobflockiger Niederschlag am Boden des Zentrifugenröhrchens. Von nun an wurden zur Versuchsflüssigkeit die doppelte Menge Alkohol hinzugegeben und dann über Nacht im Eisschrank stehengelassen. Erst am anderen Morgen wurde das ausgefallene Glykogen abzentrifugiert.

Nun ergaben sich besser übereinstimmende Werte für die Doppelversuche. Nicht zufriedenstellend war nun noch, daß der Leerversuch einen ziemlich hohen Wert aufwies, was darauf schließen ließ, daß die im Laufe des Versuches zugegebenen Säuren und Lösungen reduzierende Substanzen enthalten mußten. Diese Fehlerquelle wurde dadurch beseitigt, daß von nun an nur noch chemisch reine Reagenzien (pro analysi) verwendet wurden.

Die Methode war nun soweit gut, aber dennoch waren die Ergebnisse der Doppelversuche noch nicht ganz zufriedenstellend. Das hatte seinen Grund in folgendem:

Nach Herausnahme aus dem Brustkorb des getöteten Tieres wurde das Herz bisher in zwei Teile geteilt und der Glykogengehalt jedes Teiles bestimmt. Die Ergebnisse stellten die Werte der Doppelversuche dar.

Daß diese Werte aber nicht vollkommen übereinstimmen konnten, wird aus Arbeiten von Abderhalden-Wertheimer sowie auch Buadze-Wertheimer verständlich. Diese Autoren haben mit Hilfe einer chemischen Untersuchung gefunden, daß verschiedene Herzteile (z. B. rechter und linker Ventrikel oder Reizleitungssystem und Herzmuskulatur) verschiedenen Glykogengehalt aufweisen.

Um nun übereinstimmende Doppelversuche zu bekommen, mußte also das Herz im ganzen aufgelöst werden, dann konnten von der homogenen Lösung in aliquoten Teilen Doppelversuche angesetzt werden.

Bis zur vollkommenen Lösung des gesamten Herzens in Kalilauge war nun wieder ein längeres Erhitzen auf dem Wasserbade notwendig. Um auszuschließen, daß dabei eine Veränderung des Glykogens stattfindet, wurde noch folgendes unternommen.

Von einem in Kalilauge aufgelösten Muskel wurden zweimal je 10 ccm der Lösung entnommen. Die ersten 10 ccm wurden sofort mit 22 ccm 96 %igem Alkohol ausgefällt und weiter verarbeitet. Die anderen 10 ccm wurden noch eine weitere Stunde auf dem Wasserbade gehalten und dann nach Abkühlen mit Alkohol versetzt und

anschließend das Glykogen bestimmt. Die Ergebnisse im 1. und 2. Versuch stimmten überein (112/114 und 111/116). Sie zeigen, daß durch längeres Erhitzen in Kalilauge das Glykogen keine Veränderung erfährt.

Die Methode war nun ausgearbeitet, Fehlerquellen beseitigt, sodaß nun mit Versuchen an Meerschweinchen begonnen werden konnte. Es sei gleich hier vermerkt, daß der im folgenden beschriebene chemische Teil der Methode bei allen in dieser Arbeit aufgeführten Versuchen Anwendung fand, daß aber die Art und Weise, wie das Herz aus dem getöteten Tiere herausgenommen wurde, später eine entscheidende Änderung erfuhr.

Eigene Methode.

Das aus dem Brustkorb des durch Schlag auf den Kopf getöteten Tieres herausgenommene Herz wird in einer 60 %igen Kalilauge (1 ccm) in einem Jenaer Glasröhrchen ausgewogen. Nach der Wägung wird das Röhrchen etwa 10 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt. Danach werden zunächst 1 ccm dest. Wasser und nach Umschütteln und weiteren etwa 3 Minuten erhitzen, nochmals 2—3 ccm dest. Wasser zugegeben. Nach kurzem Umschütteln tritt vollkommene Lösung ein. Jetzt wird die Lösung in ein Meßkölbchen von 25 ccm Inhalt quantitativ übergeführt und genau aufgefüllt. Zur genügenden Mischung der Lösung wird in ein sauberes Gläschen nochmals umgeschüttet.

Aus dieser Lösung werden zweimal je 10 ccm mit einer Vollpipette in zwei unten zugespitzten Zentrifugengläschen mit etwa 22 ccm 96 %igen Alkohol versetzt, gut durchmischt und über Nacht im Eisschrank stehen gelassen.

Das über Nacht ausgefüllte Glykogen wird scharf abzentrifugiert (etwa 10 Minuten bei 3500 Touren). Die überstehende Flüssigkeit wird danach sorgfältig abgegossen und die an der Wand haftenden Tropfen mit einem Streifen Filterpapier abgetrocknet. Nun wird das am Boden haftende Glykogen durch Umrühren mit einem Glasstab in 10 ccm heißem Wasser gelöst.

Die Lösung wird dann mit einigen Tropfen verdünnter HCl neutralisiert und quantitativ in ein Meßkölbchen von 25 ccm überfiltriert. Dann wird bis zur Marke aufgefüllt.

In ein Erlenmeyerkölbchen mit einem eingeschliffenem Rückdestillierrohr wird nun die Lösung quantitativ überführt und 5 ccm einer 10 %igen HCl zugesetzt. Danach wird drei Stunden auf dem Wasserbade hydrolysiert.

Nach dem Abkühlenlassen wird dann mit einer 2n NaOH peinlich genau gegen Lackmuspapier neutralisiert und die Zuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen folgendermaßen durchgeführt.

Zu der hydrolysierten Lösung werden nun 2 ccm einer Kaliumferricyanidlösung hinzugegeben und genau 15 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Abkühlen im kalten Wasserbad wird die Titration ausgeführt. Zu dieyem Zwecke gibt man 3 ccm Kaliumjodidlösung und 2 ccm Essigsäure hinzu, schüttelt um und läßt

einige Minuten stehen. Dann titriert man unter Hinzufügen von 3—5 Tropfen Stärkelösung mit Natriumthiosulfat.

(Über die Bereitung der genannten Lösungen: Biochemische Zeitschrift, Bd. 135, 1923. „Zuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen.)

Es wurden nun Versuche mit normalen Meerschweinchen aufgenommen. 10 Tiere von annähernd derselben Größe und demselben Gewicht wurden 24 Stunden nüchtern gehalten. Die Tiere wurden nun durch Schlag auf den Kopf getötet, das Herz herausgenommen und sein Glykogengehalt bestimmt. Die Werte sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Normale Meerschweinchen.

Tier Nr.	Körper-Gewicht	Geschl.	nücht. Stden.	Herz Gewicht in mg	Glykogen in mg %
1	455 g	♂	24	961	464,3 u. 462,7 478,8 u. 478,8 474,3 u. 474,3
2	300 g	♀	24	802	181,4 u. 191,2 236,5 —
3	680 g	♂	24	—	270,4 u. 268,9 257,5 u. 264,4
4	455 g	♀	24	970	416,2 u. 429,0 421,0 u. 421,0
5	410 g	♀	24	900	239,0 u. 233,3 245,8 u. 236,1
6	495 g	♀	24	1050	299,7 u. 294,7 286,0 u. 281,0
7	730 g	♀	24	1613	378,3 u. 378,3 384,5 u. 381,3
8	590 g	♀	24	1212	617,1 u. 620,0 617,1 u. 617,1
9	555 g	♀	24	1243	368,0 u. 369,0 375,1 u. 356,1
10	525 g	♀	24	1309	357,1 u. 356,1

(Die Anzahl der hier für jedes Tier aufgeführten Glykogenwerte ist dadurch entstanden, daß mehrere Doppelversuche (2—3) durchgeführt wurden.)

Aus der mitgeteilten Aufstellung ist zu erkennen, wie stark die Werte für das Herzglykogen bei den Meerschweinchen, welche hier mit Hilfe der chemischen Bestimmungsmethode gewonnen wurden, erheblich variieren. Die extremen Werte sind 181,4 und 620,0. Es erschienen damals die Meerschweinchen für die durchzuführenden Versuche wegen der starken Variation der Herzglykogenwerte nicht sehr geeignet.

Da Cori und Cori bei weißen Ratten in den Skelettmuskeln (gastrognemius) auffallend konstante Werte für den Glykogengehalt fanden und eigene Versuche über den Glykogengehalt des Herzens bei weißen Ratten konstantere Werte als bei den Versuchen mit Meerschweinchen aufwiesen, wurden nun weiße Ratten zu den weiteren

Versuchen genommen. Zu dieser Zeit war mir die Arbeit von B. Sbarsky noch nicht bekannt, nach der sich allerdings Meerschweinchen besser für das Studieren einer Diphtherievergiftung eignen sollen.

B. Sbarsky zeigt in seiner interessanten Arbeit, daß einer der wichtigsten Faktoren, welche die Erkrankung eines Tieres durch ein bestimmtes Toxin (z. B. Diphtherie-Toxin) bedingen, in der Toxinmenge gegeben ist, die durch die Erythrocyten dieses Tieres gebunden werden. Nach Sbarsky besitzen gerade die Rattenerythrocyten eine geringe Adsorptionsfähigkeit für Diphtherietoxin. Die Ratten sind deshalb auch nicht so empfänglich wie z. B. Meerschweinchen, deren Blutkörperchen eine hohe Adsorptionsfähigkeit aufweisen. Es ist trotzdem gelungen, bei den später angegebenen Versuchen durch subkutane Injektionen von Diphtherietoxin Ratten krank zu machen und (oft auch ungewollt) zu töten. Die Dosierung mußte allerdings reichlich hoch gewählt werden.

In Unkenntnis der Sbarsky'schen Arbeit wurden also jetzt die Herzen von normalen Ratten auf Glykogengehalt untersucht.

Dazu wurden 12 weiße Ratten von annähernd gleichem Gewicht nach 24stündigem Hungern getötet und wie vorher bei den Meerschweinchen der Glykogengehalt des Herzens bestimmt. Die Glykogenwerte wurden in mg % errechnet. Im Durchschnitt ergab sich der Wert von 335 ± 25 mg %. Die extremen Werte liegen bei 182,3 und 453,1. Der Wert von 182,3 fällt allerdings gegenüber den anderen Werten etwas heraus. Die übrigen Werte sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Normale Ratten.

Tier Nr.	Körper-Gewicht	Geschl.	nücht. Stden.	Herz Gewicht in mg	Glykogen in mg %
13	33,5 g	♂	24	161	264,0 264,0
12	52,0 g	♂	24	225	182,3 186,6
11	48,0 g	♂	24	228	268,6 270,8
10	42,0 g	♂	24	200,8	373,6 373,6
9	43,0 g	♂	24	176	434,6 431,8
8	48,0 g	♂	24	216	435,2 431,7
6	—	♀	24	191,8	268,5 263,3
5	—	♂	24	156	445,5 435,9
4	—	♂	24	139,6	445,9 453,1
3	—	♂	24	145	400,0 396,6
2	35,0 g	♂	24	179	203,9 197,0
1	35,0 g	♂	24	195	307,7 311,5

Bei dieser Versuchsreihe wurde nun eine Beobachtung gemacht, die eine entscheidende Änderung der Ergebnisse mit sich brachte.

Das Herz nämlich, bereits aus dem Situs herausgenommen, schlug noch während des Präparierens und führte 1—2 Kontraktionen sogar noch in der Kalilauge aus. In der Annahme, daß jede postmortale Kontraktion des Herzmuskels Energie vielleicht in Form von Glykogen verbraucht, wurde von jetzt ab die Tötung und das Herausnehmen des Herzens auf die allernötigste Zeit beschränkt.

Bisher war im Gegensatz dazu beim Herausnehmen des Herzens keine besondere Eile verwandt worden. Als nun auf Veranlassung von Herrn Professor Cobet die in kürzester Zeit aus dem blitzschnell getöteten Tier herausgenommenen Herzen sofort in flüssiger Luft gefroren wurden, ergaben die Bestimmungen schlagartig und eindeutig viel höhere Werte als bisher. Diese Werte stimmten mit den von G. Evans gefundenen auch gut überein.

Das Wesentliche war also die Muskelarbeit des Herzens so schnell wie möglich zu unterbinden, um nach dem Tode jede Herzmuskelkontraktion zu vermeiden und vielleicht sofort eintretende Stoffwechselveränderungen zu unterbinden. Die Tötung des Tieres und das Herausnehmen des Herzens wurde von nun an folgendermaßen vorgenommen.

Nachdem alles genau vorbereitet, die Instrumente griffbereit liegen, wird das 24 Stunden nüchtern gehaltene Tier mit einer Kornzange blitzschnell am Nacken gefaßt, auf den Operationstisch gelegt und durch einen kräftigen Schlag auf den Kopf getötet. So schnell wie möglich wird der Brustkorb durch einen Scheerenschlag eröffnet. Das Herz wird nun unter Vermeidung auch des geringsten Zeitverlustes herausgenommen, an der Basis abpräpariert, sodaß nur die Ventrikel zur Bestimmung gelangen und sofort in flüssige Luft getaucht und darin ganz durchgefroren. Die Weiterverarbeitung des Herzens geschieht nun in der vorhin angegebenen Methode.

Eigene Versuche.

Das Herzglykogen von normalen Ratten.

Jetzt endlich konnte mit den eigenen Versuchen begonnen werden. Es wurden zunächst noch einmal normale Ratten auf den Glykogengehalt des Herzens untersucht, wobei sie vor der Tötung 24 Stunden nüchtern gehalten wurden, um durch Nahrungsaufnahme bedingte Einflüsse auszuschließen.

15 gesunde weiße Ratten wurden in dieser Versuchsreihe nach 24stündigem Fasten in der angegebenen Weise getötet und nach der beschriebenen Methode das Herglykogen bestimmt. Vom Ergreifen des Tieres mit der Kornzange bis zum Hineintauchen des präparierten Herzens in die flüssige Luft wurden Zeiten von 12 bis 25 Sekunden benötigt.

Die auf diese Art erhaltenen Normalwerte zeigen eine geringe individuelle Streuung und geben einen Durchschnittswert von

$$475 \pm 13 \text{ mg\%}$$

Die extremen Werte liegen bei 412,8 und 566,0.

G. Evans verwandte eine ähnliche Methode. Er fand bei weißen Ratten von einem Gewicht zwischen 120 und 200 g nach 24 stündigem Fasten einen Normalwert für den Glykogengehalt des Herzens von 488 ± 15 mg%. Bei seinen Versuchen benutzte er Amytalnarkosen. Von mir wurde eine Narkose vor der Tötung nicht angewandt, um jegliche Beeinflussung oder Änderung des Zustandes zu vermeiden.

Aus der folgenden Tabelle sind die einzelnen Werte ersichtlich.

Normale Ratten (mit flüssiger Luft).

Tier Nr.	Gewicht in g	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Glykogen in mg %
112	74	♂	244	548,1
				493,9
111	80	♂	270	478,7
				486,1
109	133	♂	347	503,6
				502,9
108	143	♂	414,4	466,5
				452,9
27	40,4	♂	180,6	416,7
				431,9
26	39	♀	184,8	461,3
				443,8
25	54	♂	247,8	486,3
				489,4
24	62	♂	226,9	479,0
				469,1
22	45	♂	216	435,2
				435,2
21	56	♂	206,7	566,0
				550,4
20	63	♂	250	506,0
				504,0
19	66	♂	359,7	421,2
				412,8
64	46	♂	226,4	408,9
				483,4
63	47	♂	200	471,2
				467,5
126	118	♂	355,2	449,7
				445,4

Der von mir gefundene Normalwert von 475 ± 13 mg% wurde den nun folgenden Versuchsergebnissen als Vergleichswert zu Grunde gelegt.

Hungertiere.

Die Tiere waren nach 72 stündigem Hungern matt und schläfrig. Sie zeigten eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 12 %. Der Glykogengehalt ihrer Herzen war aber auffallenderweise eher erhöht,

ein Befund, den auch schon G. Evans bei Hungertieren erheben konnte. Das steht in gewissem Gegensatz zu Angaben von Valdes und Grunke-Kampf. Diese Autoren fanden bei Hungertieren einen Glykogenschwund, doch war bei den Versuchen nicht berücksichtigt, daß die Geschwindigkeit des Herausnehmens des Herzens eine so entscheidende Rolle spielt.

Hungertiere.

Tier Nr.	Gewicht zu Anfang in g	Gewicht bei Tötung in g	Geschl.	Hunger-stunden	Herz Gewicht in mg	Herz Glykogen in mg%
150	181	158	♂	72	497	596,5 588,5
151	200	171	♂	72	547	518,7 553,4
152	166	141	♂	72	456	532,9 530,7

Allerdings ist die Zahl der Versuche, wie aus der Tabelle ersichtlich nur gering. Nur ein Wert liegt oberhalb der normalen Streuung, die beiden anderen an der oberen Grenze der Norm. Soviel läßt sich aber sagen, daß der Glykogengehalt bei den Hungertieren bestimmt nicht vermindert war.

Cori und Cori zeigten mit Versuchen an Ratten, daß das Gesamtglykogen zwischen der 24. und 48. Hungerstunde pro 100 g Tier berechnet nur um 22 mg abnimmt. Die Verfasser versuchen diese Konstanz des Glykogens durch die Annahme zu erklären, daß die Fettoxydation die Energie für die Rückverwandlung der während der Muskeltätigkeit gebildeten Milchsäure liefert.

Der Glykogengehalt von Normal- und Hungertieren ist ermittelt. Nun wurden die Tiere mit Diphtherie-Toxin (Behring F. 1. Wert 0,05) vergiftet und zwar in folgenden drei Versuchsreihen.

Zunächst wurden die Tiere mit einer einmaligen hohen tödlichen Dosis vergiftet. Dann wurde eine mittlere Dauer der Intoxikation studiert, wobei eine tödliche Gesamtmenge des Toxins auf mehrere Tage verteilt wurde. Schließlich wurden Ratten mehrmals in kleinen Dosen so vergiftet, daß sie noch am Leben (bis zu 11 Tagen) gehalten wurden. Das Diphtherin-Toxin wurde den Tieren unter die Bauchhaut injiziert.

Einmalige hohe tödliche Dosis.

Die Dosis für eine akute Vergiftung mußte ziemlich hoch gewählt werden, um an den Tieren äußerlich sichtbare Erscheinungen hervorzurufen.

Die eine Gruppe von Ratten in dieser Versuchsreihe erhielt auf 100 g Körpergewicht 0,6 bezw. 0,8 ccm des angegebenen Diphtherie-Toxin injiziert. Die Tiere machten schon am nächsten Tage einen kranken Eindruck. Sie saßen stumpf herum, hatten beschleunigte Atmung und struppiges, feuchtes Fell. Am zweiten Tage nahm der

krankhafte Eindruck noch zu. Es stellten sich Durchfälle, sowie eine deutliche Cyanose an Pfoten, Schnauze, Ohren und Schwanz ein. Nach 48 Stunden wurden die Tiere dann in der angegebenen Weise getötet und das Glykogen bestimmt. Dabei zeigt sich, daß die ermittelten Werte des Herzglykogens mit Ausnahme von 3 Tieren von insgesamt 15 unter dem Mittelwert der Normaltiere liegen. Im Durchschnitt läßt sich ein Wert von

$$337 \pm 25 \text{ mg } \%$$

errechnen, sodaß bei diesen mit hohen Toxindosen vergifteten Tieren das Herzglykogen gegenüber den Normaltieren um 29 % geschwunden ist.

Bei der Errechnung des Mittelwertes wurden drei Tiere mit den Nummern 87, 115 und 116 nicht mit berücksictigt, da sie im Vergleich zu den anderen Werten zu extrem sind.

Hohe Toxin-Dosis.

I. Gruppe.

Tier Nr.	Körper-Gewicht zu Anfang in g	Körper-Gewicht bei Tötung in g	Verlust %	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Glykogen in mg%	Toxin Dosis insgesamt	Toxin Dosis auf 100 g	gespritzt an	getötet am	Tötungs-Zeit
66	55,5	53,0	10,47	♂	249,0	425,8 421,7	0,30		26. 7.	28. 7.	19,5"
67	67,5	65,0	10,38	♂	305,0	421,4 425,4	0,35		26. 7.	28. 7.	18,0"
86	75,5	71,5	10,53	♂	244,9	417,5 393,1	0,45	0,6	16. 8.	18. 8.	14,0"
88	47,5	45,0	10,56	♂	218,0	188,1 167,5	0,29	0,6	16. 8.	18. 8.	15,0"
89	60,0	54,0	11,11	♂	212,0	215,8 211,1	0,36	0,6	16. 8.	18. 8.	16,0"
90	45,0	36,5	12,33	♂	175,0	368,7 —	0,27	0,6	16. 8.	18. 8.	15,0"
91	72,0	61,5	11,70	♀	243,0	347,8 357,0	0,43	0,6	16. 8.	18. 8.	17,0"
92	55,0	48,0	11,46	♂	211,0	316,3 —	0,33	0,6	16. 8.	18. 8.	26,0"
93	75,5	71,0	10,63	♂	278,0	377,8 376,0	0,45	0,6	16. 8.	18. 8.	26,0"
94	51,0	50,0	10,20	♂	208,8	268,2 282,5	0,31	0,6	16. 8.	18. 8.	13,8"
95	55,0	49,5	11,11	♀	168,0	322,7 302,1	0,33	0,6	16. 8.	18. 8.	14,0"
87	62,5	60,0	—	♂	270,0	581,5 580,6	0,37	0,6	16. 8.	18. 8.	22,5"

Fortsetzung.

Tier Nr.	Körper-Gewicht zu Anfang in g	Körper-Gewicht bei Tötung in g	Verlust %	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Glykogen in mg %	Toxin Dosis insgesamt	Toxin Dosis auf 100 g	gespritzt an	getötet am	Tötungs-Zeit
115	50,0	49,0	—	♂	202,8	49,51 55,69	0,47	0,8	9. 10.	11. 10.	12,8"
116	88,0	72,0	—	♂	238,0	575,6 578,1	0,70	0,8	9. 10.	11. 10.	14,0"
114	91,0	79,0	11,52	♂	269,0	392,2 409,8	0,75	0,8	9. 10.	11. 10.	15,0"
117	77,0	65,0	11,84	♂	333,0	378,4 380,6	0,61	0,8	9. 10.	11. 10.	15,0"
118	79,0	67,0	11,78	♂	308,0	349,8 369,3	0,63	0,8	9. 10.	11. 10.	13,8"
119	77,0	72,0	10,69	♂	235,2	304,0 255,1	0,61	0,8	9. 10.	11. 10.	10,5"
II. Gruppe.											
130	129,0	105,0	12,28	♂	416,0	285,4 281,9	0,78	0,6	5. 11.	8. 11.	15,0"
131	130,0	116,0	11,22	♂	355,0	386,6 384,5	0,78	0,6	5. 11.	8. 11.	13,0"
146	147,0	117,0	12,56	♂	444,0	418,4 417,2	0,89	0,6	3. 12.	6. 12.	17,0"
147	156,0	127,0	12,27	♂	445,0	393,8 393,8	0,93	0,6	3. 12.	6. 12.	12,6"

Bei den Tieren dieser Versuchsreihe wurde eine Gewichtsabnahme während 48 Stunden von 10—12 % beobachtet. Die individuelle Streuung ist hier etwas größer als bei den Normaltieren. Dies hängt wohl mit der Schwierigkeit einer genauen Dosierung des Toxins, zum anderen mit der verschiedenen Empfindlichkeit der einzelnen Tiere gegenüber dem Toxin zusammen.

Eine zweite Gruppe dieser Versuchsreihe erhielt dieselbe Menge Toxin (0,6 auf 100 g Körpergewicht). Es handelt sich ausschließlich um größere, ausgewachsene Tiere. Sie wurden dreimal 24 Stunden nach der Injektion getötet, damit die Glykogenbestimmung erst dann vorgenommen wurde, wenn die Tiere der Vergiftung zu erliegen drohen.

Die Herzglykogenwerte auch dieser Ratten liegen deutlich unterhalb des Vergleichswertes der Normaltiere. Er beträgt 370 $\pm$ 15 mg%.

Mittlere Dauer der Intoxikation. Tödliche Gesamtmenge des Toxins auf mehrere Tage verteilt.

Die Tiere dieser Versuchsreihe wurden bis zu 6 Tagen am Leben gehalten und erhielten während dieser 6 Tage verschiedene Diphtherie-Toxienmengen injiziert, deren Gesamtmenge eine tödliche Dosis darstellt. Die Toxindosen sind in dieser Versuchsreihe nicht auf 100 g Körpergewicht angegeben, stellen also absolute Toxinmengen dar. Die aufgeführte Tabelle weist drei Gruppen von Tieren auf, die auf diese Weise vergiftet wurden. Die einzelnen Toxinmengen sind aus der Aufstellung ersichtlich. Zur Tötung wurde der 6. Tag nach der ersten Injektion gewählt.

Mittlere Intoxikationsdaur, tödliche Gesamttoxinmenge auf mehrere Tage verteilt.

Tier Nr.	Körpergewicht zu Anfang in g	Körpergewicht bei Tötung in g	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Herz Glykogen in mg%	absolute Toxinmenge
28	57	51	♂	232,1	397,4	1. Tag 0,03
31	72	64	♂	281,0	393,1 — 229,8	2. Tag 0,015 5. Tag 0,015
32	66	64	♂	278,0	340,1 347,9	6. Tag Tötg. eines Toxins-
34	58	61	♂	259,6	386,1 386,1	Behring F. l.
36	60	58	♂	323,0	393,3 397,6	Wert f. Kaninchen 0,02—0,04
42	58	64	♂	235,6	217,1	1. Tag 0,04
43	52	57	♂	212,0	210,1 305,4 303,1	2. Tag 0,03 3. Tag 0,045
44	62	71	♂	298,4	279,0 289,0	4. Tag 0,07 5. Tag 0,08
46	65	65	♂	290,0	198,0 210,3	6. Tag Tötg.
51	46	51	♂	205,0	311,0 308,6	des gleichen Toxins wie ob.

Fortsetzung.

Tier Nr.	Körpergewicht zu Anfang in g	Körpergewicht bei Tötung in g	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Herz Glykogen in mg%	absolute Toxinmenge
68	51	am 5. Tage tot aufgefunden!				
70	64	am 5. Tage tot aufgefunden!				
72	63	46,5	♂	171,0	103,8 119,8	1. Tag 0,2 2. Tag 0,1
74	54	40,5	♂	182,0	384,6 388,7	eines Toxins
76	56	40,0	♂	170,0	392,7 423,5	Behring F. l. Wert 0,05

Der Mittelwert von den in der Tabelle aufgeführten 13 Tieren beträgt

$$310 \pm 68 \text{ mg\%}.$$

Der stark krankhafte Eindruck, den die Tiere vor ihrer Tötung machten, entspricht diesem Glykogenschwund. Sie hatten außer feuchtem ‚struppigen Fell, eine ausgesprochene Cyanose und litten gegen Ende z. T. an Krämpfen und Lähmungen. Einige Tiere sind unter solchen Krämpfen schnell der Vergiftung erlegen.

Längere Dauer der Intoxikation mit zwei kleinen, im einzelnen nicht lödlichen Toxininjektionen.

In der letzten Versuchsreihe wurden nun Ratten mit kleinen Dosen so vergiftet, daß sie dadurch wohl krank gemacht, aber lange am Leben erhalten wurden. Die erste Serie erhielt am 1. Tag eine Injektion von 0,2 des Diphtherietoxins auf 100 g Körpergewicht gerechnet und nach 9 Tagen eine weitere Injektion von 0,1 auf 100 g Körpergewicht. Nach 11 Tagen von der ersten Injektion an gerechnet, wurden die Tiere getötet und der Herzglykogengehalt bestimmt.

Obgleich ein Tier der Vergiftung erlag, machten die anderen äußerlich keinen wesentlich kranken Eindruck.

Die aus der Tabelle ersichtlichen Glykogenwerte liegen nun auch in auffallender Weise mit Ausnahme eines Tieres (Nr. 85) im Bereiche der Norm, zum Teil über dem Durchschnittswert, vereinzelt sogar ähnlich hoch wie bei den Hungertieren. Eine zweite Serie erhielt ebenso am 1. Tage 0,2 Toxin auf 100 g Körpergewicht bezogen. Im Gegensatz zu den eben erwähnten Tieren der ersten Serie aber nach 8 Tagen eine weitere Injektion in derselben Höhe, also 0,2 Toxin. Das wurde in der Absicht getan, das Tier kränker zu machen, ohne es aber damit zu töten. Am 11. Tage wurden diese Ratten dann in der üblichen Weise getötet. Die Glykogenbestimmung ergab Werte, die alle mehr oder weniger unterhalb des Normalwertes liegen. Zwei Tiere erlagen der Vergiftung. Das Tier Nr. 125 am 5. Tage nach der ersten Injektion, das andere kurz nach der zweiten Injektion.

Protrahierte Dosis.

1. Serie:

Tier	Körper-Gewicht zu Anfang in g	Körper-Gewicht bei Tötung in g	Geschl.	Herz Gewicht in mg	Herz Glykogen in mg%	Toxin Dosis insgesamt	Toxin Dosis auf 100 g	gespritzt am	getötet am	Tötungs-Zeit	Wirkungs-Zeit
78	85	81	♂	250,0	564,0	0,17	0,2	5. 8.	16. 8.	16"	11 Tage
					506,0	0,097	0,1	14. 8.			
79	87	77	♂	277,0	423,3	0,174	0,2	5. 8.	16. 8.	16"	11 Tage
					418,8	0,086	0,1	14. 8.			
80	73	69	♂	253,0	463,4	0,15	0,2	5. 8.	16. 8.	26"	11 Tage
					—	0,083	0,1	14. 8.			
81	64	50	♂	191,0	522,3	0,128	0,2	5. 8.	16. 8.	13,8"	11 Tage
					524,9	0,068	0,1	14. 8.			
82	100	94	♂	279,8	472,7	0,20	0,2	5. 8.	16. 8.	18"	11 Tage
					465,5	0,10	0,1	14. 8.			
83	86	Tier wurde am 3. Tage tot aufgefunden!				0,172					
84	58	55	♂	205,0	471,9	0,116	0,2	5. 8.	16. 8.	16"	11 Tage
					419,5	0,065	0,1	14. 8.			
85	51	57	♂	251,0	276,0	0,102	0,2	5. 8.	16. 8.	15"	11 Tage
					271,6	0,068	0,1	14. 8.			

2. Serie:

120	84	74	♂	271,5	298,4	0,17	0,2	10. 10.	21. 10.		11 Tage
					308,4	0,17		18. 10.			
121	81	Tier wurde am 3. Tage tot aufgefunden!				0,16	0,2	10. 10.	21. 10.		11 Tage
								18. 10.			
122	69	63	♂	251,1	357,6	0,14	0,2	10. 10.	21. 10.		11 Tage
					377,5	0,14		18. 10.			
123	85	73	♂	255,0	415,6	0,17	0,2	10. 10.	21. 10.		11 Tage
					415,6	0,17		18. 10.			
124	96	105,2	♂	420,2	468,2	0,13	0,2	10. 10.	21. 10.		11 Tage
					461,1	0,13		18. 10.			
125	66	Tier wurde am 4. Tage tot aufgefunden!				0,13	0,2	10. 10.			11 Tage

Histologische Kontrolluntersuchungen.

Zu jeder Versuchsreihe, bei welcher Tiere mit Diphtherie-Toxin vergiftet wurden, sind die Herzen von je zwei Tieren, welche unter die gleichen Bedingungen gestellt wurden, histologisch untersucht. Es wurden also entsprechend den letzten drei Versuchsreihen je zwei Tiere

1. mit hoher tödlicher Dosis und kurzer Dauer der Intoxikation
2. mit mittlerer Dauer der Intoxikation, wobei die tödliche Gesamttoxinmenge auf mehrere Tage verteilt wurde,
3. mit längerer Intoxikationsdauer und zwei kleinen, im einzelnen nicht tödlichen Toxingaben vergiftet.

Die nach der Tötung herausgenommenen Herzen wurden in Formol gehärtet und mit Haematoxilin und Eosin gefärbt. Im Vergleich zu den mikroskopischen Schnitten zweier normaler Rattenherzen konnte folgender wichtiger Befund erhoben werden.

Die Herzen der mit Diphtherie-Toxin vergifteten Tiere wiesen alle eine Herzmuskelschädigung in Form einer Myolyse (ähnlich einer wachsartigen Degeneration) auf.

Das wesentlichste Ergebnis dieser histologischen Präparate ist jedoch, daß pathologisch-anatomisch die schwersten Schädigungen am Herzmuskel gerade bei den unter 3 genannten mit kleinen Toxindosen vergifteten und lange am Leben gehaltenen Tieren gefunden wurden, also unter Bedingungen, bei denen ich den geringsten, z. T. aber auch gar keinen Glykogenschwund hatte nachweisen können. Außer einer Myolyse, wie sie auch bei den anderen vergifteten Tieren gefunden wurde, zeigt sich hier im histologischen Präparat noch eine deutliche Zellwucherung des interstitiellen Bindegewebes. Überhaupt ist diese Myocardschädigung bei diesen Tieren am ausgeprägtesten. Bei der geringen Zahl der Untersuchung sei dieses Ergebnis allerdings nur mit Vorbehalt wiedergegeben.

Histologische Kontrollen.

Tier Nr.	Geschl.	Gewicht in g	Toxinmenge	gespritzt am:	getötet am:	histolog. Befund	Intoxikationsdauer
H_1	♂	68	0,14 0,07	21. 8. 31. 8.	2. 9.	starke Myolyse u. interstitielle Zellwucherung.	11 Tage
H_2	♂	90	0,15 0,075	21. 8. 31. 8.	2. 9.		
H_3	♂	73	0,24	19. 8.	24. 8.	Myolyse	6 Tage
H_4	♂	76	0,26	19. 8.	24. 8.		
H_9	♂	117	0,69	29. 9.	1. 10.	tot	
H_{10}	♂	89	0,54	29. 9.	1. 10.	starke Myolyse	3 Tage

Insgesamt ergibt sich nun also aus den aufgeführten Versuchen, daß im Laufe einer Diphthiericerkrankung eine Verminderung des Glykogengehaltes im Herzen auftritt.

Auch andere Autoren haben schon den Glykogengehalt des Herzens untersucht, teils in histologischen Schnittens, teils mit Hilfe einer

chemischen Methode. Ein Vergleich mit ihren Ergebnissen kann aber nur dann stattfinden, wenn die betreffenden Forscher die Bedeutung des schnellen Arbeitens beim Herausnehmen des Herzens entsprechend berücksichtigt hatten.

So wurden für den Glykogengehalt des Herzens bei Normal- und Hungerratten übereinstimmende Werte mit G. Evans gefunden, dessen Versuche unter entsprechenden Bedingungen ausgeführt werden.

Ein Vergleich mit Ergebnissen verschiedener Autoren, die ihre Untersuchungen an Leichenherzen anstellten, ist daher unmöglich.

In meinen Versuchen konnte beobachtet werden, daß die Tiere, welche den Eindruck einer schweren Erkrankung machten, auch den größten Glykogenschwund im Herzen aufwiesen.

Diphtherievergiftete Tiere, welche äußerlich keine krankhaften Symptome zeigten, hatten auch keinen Glykogenschwund, obgleich sie schwere Herzmuskelschädigungen im histologischen Schnitt erkennen ließen.

Es muß daraus geschlossen werden, daß der Faktor, der den Glykogenschwund im Herzen bewirkt, mit dem schweren Kranksein des Tieres im Zusammenhang steht. Welche Ursache es ist, und ob die bei schwerkranken Tieren beobachtete Cyanose eine Rolle spielt, kann noch nicht gesagt werden.

Zusammenfassung.

Das Wesentlichste bei der Bestimmung eines Herglykogengehaltes liegt darin, die Stoffwechselvorgänge nach Tötung des Tieres so schnell wie möglich zu unterbinden. Dies wurde durch schnellstes Arbeiten beim Herausnehmen des Herzens und durch sofortiges Gefrieren in flüssiger Luft erreicht. Vom Ergreifen des Tieres bis zum Hineintauchen des präparierten Herzens in flüssige Luft wurden Zeiten von 12—25 Sekunden benötigt.

Der Glykogengehalt von normalen Rattenherzen konnte dann in Übereinstimmung mit G. Evans (488 mg%) mit 475 mg% festgelegt werden.

Die Hungertiere wiesen nach 72stündigem Fasten keinen Glykogenschwund, eher in Übereinstimmung mit Evans eine Glykogenvermehrung auf.

Bei den mit hoher Diphtherie-Toxin-Dosis vergifteten Ratten wurde eine Verminderung des Herzglykogens um 29 % gefunden.

Ein noch größerer Glykogenschwund konnte bei den Tieren mit mittlerer Intoxikationsdauer gefunden werden, bei denen die tödliche Gesamttoxinmenge auf 6 Tage verteilt wurde.

Tiere, die mit kleinen, nicht tödlichen Dosen vergiftet, lange, bis zu 11 Tagen am Leben gehalten wurden, wiesen z. T. einen geringen Glykogenschwund auf, z. T. zeigten sie normale oder auffallend hohe Glykogenwerte, obwohl gerade bei derartig vergifteten Tieren pathologisch-anatomisch die schwersten Myocardschädigungen gefunden wurden.

Es liegt mir sehr daran, Herrn Professor Cobet und Herrn Professor Grunke für die gütige Überlassung der Arbeit und die Unterstützung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ebenso danke ich Herrn Professor Wätjen und Herrn Dr. Grieshammer für die Durchsicht der histologischen Präparate.

Zu besonderem Danke bin ich Herrn Medizinal-Praktikant Schumann für seine viele, liebenswürdige Hilfe beim Spritzen und Töten der Ratten verpflichtet.

LITERATUR-VERZEICHNIS

Bierry: zit. Kongreßbl., Bd. 52, S. 33, 1930.
Buadze-Wertheimer: Pflügers Archiv, Bd. 219, 1928.
Cori und Cori: Biochem. Zeitschr. 206, S. 39, 1928.
De Joungh und Planelles: Biochem. Zeitschr. 154, S. 167, 1924.
G. Evans: J. of Physiolog., Bd. 82, S. 468, 1934.
Grunke-Kampf: Z. d. experiment. Med., Bd. 79.
Sbarsky: Biochem. Zeitschr. 169, S. 113, 1925.
Simonovits: Biochem. Zeitschr. 268, S. 437, 1933.
Valdes: Virchows Archiv, 274, 1929.

LEBENSLAUF

Am 12. Mai 1910 wurde ich als 2. Sohn des 1936 verstorbenen Polizei-Oberinspektors Hermann Böhm in Halle (Saale) geboren. Ich bin deutscher Staatsangehöriger, evangelisch. Das Reifezeugnis der städt. Oberrealschule zu Halle erhielt ich Ostern 1931. Im Anschluß studierte ich in Innsbruck und Halle Medizin. Am 28. Oktober 1933 bestand ich die ärztliche Vorprüfung mit gut und am 28. Nov. 1936 die ärztliche Prüfung mit gut in Halle. Als Medizinal-Praktikant war ich vom 1. Dez. 1936 bis 31. Aug. 1937 an der Med. Univ. Klinik und vom 1. Sept. 1937 bis zum 30. Nov. 1937 an der Chirurgischen Universitätsklinik tätig.

Vom 1. Dezember 1937 ab bin ich beim N. S. D. Ärztebund als angestellter Arzt in der Gesundheitsführung der Hitler-Jugend tätig.

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14
Spezialdruckerei für wissenschaftliche Werke und Dissertationen